

23

B22

**English Language Abstract for FR2638745**

Compounds corresponding to the general formula I in which n represents the number 2 or 3, Y represents a sulphur or oxygen atom, R represents a linear or branched (C1-C4)alkyl group, a linear or branched (C2-C4)alkenyl group, a cyclo(C3-C6)alkylmethyl group or a benzyl group optionally substituted by one or two methoxy groups, and R' represents a linear or branched (C1-C4)alkyl group. Application in therapeutics.

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①⑪ N° de publication : **2 638 745**

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **88 14539**

⑤① Int Cl<sup>8</sup> : C 07 D 281/02; A 61 K 31/55.

⑫ **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

A1

②② Date de dépôt : 8 novembre 1988.

③⑦ Priorité :

④③ Date de la mise à disposition du public de la  
demande : BOPI « Brevets » n° 19 du 11 mai 1990.

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux appa-  
rentés :

⑦① Demandeur(s) : *SYNTHELABO, Société Anonyme.* — FR.

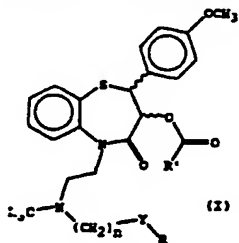
⑦② Inventeur(s) : Jean-Claude Muller ; Alistair Lohead ;  
Colombe Denys.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : Jacques Ludwig, Synthelabo.

⑤④ Dérivés de [(N-alkylthioalkyl-méthylamino)-2 éthyl]-5 benzothiazepine-1,5 one-4, leur préparation et leur applica-  
tion en thérapeutique.

⑤⑦ Composés répondant à la formule générale I



dans laquelle *n* représente le nombre 2 ou 3, Y représente un  
atome de soufre ou d'oxygène, R représente un groupe  
(C<sub>1</sub>—C<sub>4</sub>)alkyle linéaire ou ramifié, un groupe (C<sub>2</sub>—C<sub>4</sub>)alcényle  
linéaire ou ramifié, un groupe cyclo(C<sub>2</sub>—C<sub>4</sub>)alkylméthyle, ou un  
groupe benzyle éventuellement substitué par un ou deux  
groupes méthoxy, et R' représente un groupe (C<sub>1</sub>—C<sub>4</sub>)alkyle  
linéaire ou ramifié.

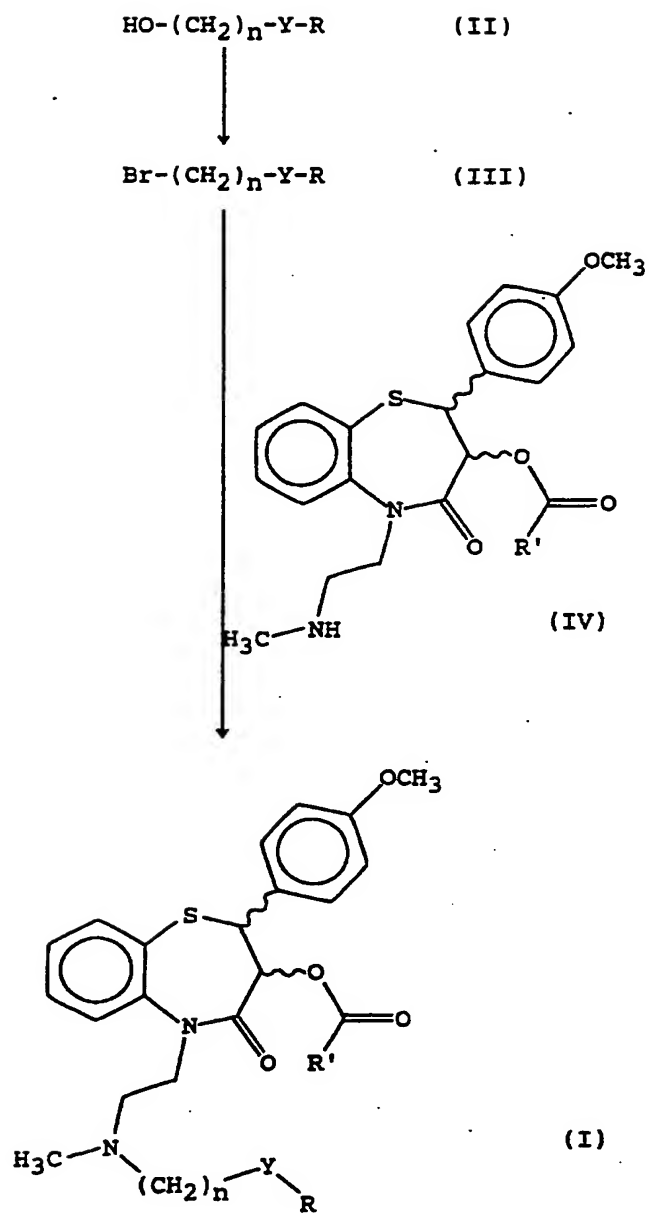
Application en thérapeutique.

FR 2 638 745 - A1

La présente invention a pour objet des dérivés de (méthylamino-2 éthyl)-5 benzothiazépine-1,5 one-4, leur préparation et leur application en thérapeutique.

- 5 Les composés de l'invention répondent à la formule générale (I) donnée dans le schéma ci-après, formule dans laquelle n représente le nombre 2 ou 3, Y représente un atome de soufre ou d'oxygène, R représente un groupe (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyle linéaire ou ramifié, un
- 10 groupe (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>)alcényle linéaire ou ramifié, un groupe cyclo-(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)alkylméthyle, ou un groupe benzyle éventuellement substitué par un ou deux groupes méthoxy, et R' représente un groupe (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyle linéaire ou ramifié.
- 15 Les composés de l'invention peuvent se présenter à l'état de bases libres ou de sels d'addition à des acides. Ils comportent dans leur molécule deux atomes de carbone chiraux (positions 2 et 3 de l'hétérocycle), et peuvent donc présenter diverses isoméries optiques. Les isomères optiques,
- 20 purs ou mélangés entre eux, font bien entendu partie de l'invention.
- Les composés de formule générale (I) peuvent être préparés selon un procédé illustré par le schéma ci-après.
- 25 Ce procédé consiste à faire réagir, d'abord un alcool de formule générale (II) (dans laquelle n, Y et R sont tels que définis ci-dessus) avec un agent de bromation tel que le tribromure de phosphore ou le tétrabromure de carbone en
- 30 présence de triphénylphosphine. La réaction s'effectue à température ambiante, éventuellement avec refroidissement, dans un solvant aprotique, par exemple le dichlorométhane ou l'acétonitrile.
- 35 On obtient un dérivé bromé de formule générale (III) que l'on fait réagir ensuite avec une acyloxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 (méthylamino-2 éthyl)-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4 de formule générale (IV) (dans laquelle R' est tel que défini ci-dessus), dans des conditions appropriées à la

## Schéma



condensation d'une amine secondaire et d'un dérivé halogéné. Ainsi, par exemple, la réaction peut s'effectuer dans un solvant aprotique, par exemple une cétone telle que l'acétone ou la butanone-2, en présence d'une base, par exemple une  
5 base minérale telle que le carbonate de potassium ou de sodium, à la température de reflux du solvant.

Les alcools de départ de formule générale (II) sont tous connus, du moins lorsque Y représente l'oxygène. Lorsque Y  
10 représente le soufre, on peut les préparer selon tout procédé connu. Ainsi, par exemple, on peut soit condenser un  $\omega$ -bromo-alcanol de formule générale  $\text{Br}(\text{CH}_2)_n\text{OH}$  avec un thiol de formule générale  $\text{RSH}$ , soit condenser un  $\omega$ -mercapto-alcanol de formule générale  $\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{OH}$  avec un dérivé halogéné de  
15 formule générale  $\text{RX}$ . Dans ces formules, R et n sont tels que définis ci-dessus, et X représente un atome de chlore ou de brome.

Les conditions physiques de ces types de réaction sont bien connues de l'homme du métier.

20

Les exemples qui vont suivre illustrent en détail la préparation de quelques composés selon l'invention.

Les microanalyses élémentaires et les spectres IR et RMN confirment les structures des produits obtenus.

25 Les numéros indiqués dans les titres des exemples correspondent à ceux du tableau donné plus loin.

Exemple 1. (Composé n°4)

(+)-cis-2S,3S-Acétyloxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 [[N-[(méthyl-2 propène-2 yl)thio]-2 éthyl]méthylamino]-2 éthyl]-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, oxalate.

5

## 1.1. [(Méthyl-2 propène-2 yl)thio]-2 éthanol.

On chauffe au reflux pendant 7 h une suspension de 9,05 g (0,1 mole) de chloro-1 méthyl-2 propène-2, 7,81 g (0,1 mole) de mercapto-2 éthanol et 41,46 g (0,3 mole) de carbonate de potassium dans 200 ml d'éthanol. On laisse le mélange revenir à température ambiante, on l'agite pendant 10 h, on sépare les solides par filtration, on évapore le solvant et on distille le résidu sous vide. On obtient 7,93 g de produit qu'on utilise tel quel dans l'étape suivante.

15

## 1.2. [(Bromo-2 éthyl)thio]-1 méthyl-2 propène-2.

On introduit dans un ballon 18,4 g (0,12 mole) de tétrachlorure de carbone et 7,8 g (0,03 mole) de triphénylphosphine. On ajoute 4 g (0,03 mole) de [(méthyl-2 propène-2 yl)thio]-2 éthanol et on chauffe le mélange à 60°C pendant 1h. On le filtre, on évapore le filtrat et on distille le résidu à 58°C sous environ 270 Pa (2 mmHg). On obtient 2,21 g de produit qu'on utilise tel quel dans l'étape suivante.

25

## 1.3. (+)-cis-2S,3S-Acétyloxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 [[N-[(méthyl-2 propène-2 yl)thio]-2 éthyl]méthylamino]-2 éthyl]-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, oxalate.

On chauffe au reflux pendant 30 h un mélange de 3 g (6,87 mmoles) de chlorhydrate de (+)-cis-(2S,3S)-acétyloxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 (méthylamino-2 éthyl)-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, 1,65 g (10 mmoles) de [(bromo-2 éthyl)thio]-1 méthyl-2 propène-2 et 8 g de carbonate de potassium dans 80 ml de butanone-2. On filtre le mélange, on évapore le filtrat, et on purifie le résidu par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange 98/2 de dichlorométhane/méthanol.

30

On obtient 2,53 g de produit huileux qu'on traite avec un équivalent d'acide oxalique dans de l'éthanol chaud. On isole finalement 2,01 g d'oxalate.

35

Point de fusion :  $154^{\circ}\text{C}$   $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 88,8^{\circ}$  ( $c = 0,5$  ; MeOH).

Exemple 2. (Composé n°3).

(+)-cis-2S,3S-Acétyloxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 [[N-[(méthyl-2 propyl)thio]-2 éthyl]méthylamino]-2 éthyl]-5 dihydro-2,3,5H-benzothiazépine-1,5 one-4, oxalate.

2.1. [(Méthyl-2 propyl)thio]-2 éthanol.

On chauffe au reflux pendant 10 h une suspension de 9,02 g (0,1 mole) de méthyl-2 propanethiol, 12,49 g (0,1 mole) de bromo-2 éthanol et 69,1 g de carbonate de potassium dans 200 ml d'acétone. On filtre la suspension, on évapore le filtrat sous pression réduite et on distille le résidu sous vide. On obtient 11 g de produit qu'on utilise tel quel dans l'étape suivante.

Point d'ébullition :  $58^{\circ}\text{C}$  sous 13Pa (0,1 mmHg).

2.2. [(Bromo-2 éthyl)thio]-1 méthyl-2 propane.

Dans un ballon tricol équipé d'une garde à chlorure de calcium on introduit une solution de 16,2 g (60 mmoles) de tribromure de phosphore dans 100 ml de dichlorométhane, on la refroidit à  $-5^{\circ}\text{C}$  et on ajoute goutte à goutte une solution de 8,07 g (60 mmoles) de [(méthyl-2 propyl)thio]-2 éthanol dans 20 ml de dichlorométhane. On maintient l'agitation à  $0^{\circ}\text{C}$  pendant 1 h, puis à température ambiante pendant 10 h. On jette le mélange sur une solution aqueuse glacée saturée de bicarbonate de sodium, on sépare la phase organique, on la lave à l'eau, on la sèche et on l'évapore sous pression réduite. On obtient 19 g de résidu huileux qu'on purifie par distillation sous vide. On isole finalement 7,1 g de produit qu'on utilise tel quel dans l'étape suivante.

2.3. (+)-cis-2S,3S-Acétyloxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 [[N-[(méthyl-2 propyl)thio]-2 éthyl]méthylamino]-2 éthyl]-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, oxalate.

On chauffe au reflux pendant 24 h une suspension de 3 g (6,87 mmoles) de chlorhydrate de (+)-cis-(2S,3S)-acétyloxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 (méthylamino-2 éthyl)-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, 2,50 g (12,7 mmoles) de [(bro-

mo-2 éthyl)thio]-1 méthyl-2 propane, et 3,80 g de carbonate de potassium dans 50 ml de butanone-2. On filtre le mélange, on évapore le filtrat, et on purifie le résidu par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange 98/2 de dichlorométhane/méthanol. On obtient 3,05 g de produit huileux qu'on dissout dans 30 ml d'éthanol chaud et qu'on traite avec un équivalent d'acide oxalique. On isole finalement 2,70 g d'oxalate. Point de fusion : 164°C  $[\alpha]_D^{20} = 83,9^\circ$  (c = 0,5 ; MeOH).

10

Exemple 3. (Composé n°9).

(+)-cis-2S,3S-Acétyloxy-3 [[N-[[[(diméthoxy-3,4 phényl)méthyl]thio]-2 éthyl]méthylamino]-2 éthyl]-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, oxalate.

15

3.1. Chlorométhyl-4 diméthoxy-1,2 benzène.

Dans un ballon de 250 ml on introduit 10,0 g (57 mmoles) de diméthoxy-3,4 benzèneméthanol, 100 ml de dichlorométhane et 10,1 g, soit 6,2 ml (85 mmoles) de chlorure de thionyle. On agite le mélange, puis on le chauffe au reflux pendant 0,5 h. On évapore le mélange sous vide, et, à deux reprises, on reprend le résidu avec du toluène qu'on évapore sous vide. On reprend alors le résidu avec 100 ml d'éther diéthylique, on lave la solution deux fois avec 70 ml d'eau, on sèche la phase organique sur sulfate de magnésium et on l'évapore. On obtient 10 g de produit qu'on utilise tel quel dans l'étape suivante.

20

25

3.2. [[(Diméthoxy-3,4 phényl)méthyl]thio]-2 éthanol.

On chauffe au reflux pendant 5 h un mélange de 5 g (26 mmoles) de chlorométhyl-4 diméthoxy-1,2 benzène, 2 g (26 mmoles) de mercapto-2 éthanol et 3,7 g (26 mmoles) de carbonate de potassium dans 75 ml d'éthanol. On filtre le mélange, on évapore le filtrat et on distille le résidu à 150°C sous 40Pa (0,3 mmHg). On obtient 2,24 g de produit qu'on utilise tel quel dans l'étape suivante.

30

35

3.3. [[[Bromo-2 éthyl]thio]méthyl]-4 diméthoxy-1,2 benzène.  
 Dans un ballon de 500 ml on introduit 2,24 g (0,1 mole) de  
 [[(diméthoxy-3,4 phényl)méthyl]thio]-2 éthanol et 4,3 g  
 (0,13 mmole) de tétrabromure de carbone dans 100ml d'acéto-  
 5 nitrile. On refroidit la solution à 0°C et on ajoute 3,3 g  
 (0,13 mole) de triphénylphosphine en 15 mn. On agite le  
 mélange pendant 2,5 h à température ambiante, on évapore le  
 solvant sous vide et on purifie le résidu par chromatographie  
 sur gel de silice en éluant avec un mélange 60/40 d'hexane/-  
 10 éther. On obtient 2,6 g de produit qu'on utilise tel quel  
 dans l'étape suivante.

3.4. (+)-cis-2S,3S-Acétyleoxy-3 [[N-[[[(diméthoxy-3,4 phényl)-  
 méthyl]thio]-2 éthyl]méthylamino]-2 éthyl]-5 dihydro-2,3  
 15 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, oxalate.  
 On chauffe au reflux pendant 24 h un mélange de 3 g (6,87  
 mmoles) de chlorhydrate de (+)-cis-(2S,3S)-acétyleoxy-3  
 (méthoxy-4 phényl)-2 (méthylamino-2 éthyl)-5 dihydro-2,3  
 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, 2,2 g (7,55 mmoles) de  
 20 [[(bromo-2 éthyl)thio]méthyl]-4 diméthoxy-1,2 benzène et 8 g  
 de carbonate de potassium dans 50 ml de butanone-2.  
 On filtre le mélange, on évapore le filtrat, et on purifie  
 l'huile résiduelle par chromatographie sur gel de silice en  
 éluant avec un mélange 97,5/2,5 de dichlorométhane/méthanol.  
 25 On obtient 2,2 g de base libre qu'on reprend dans de l'étha-  
 nol et qu'on traite avec de l'acide oxalique. On filtre le  
 précipité et on le recristallise dans l'éthanol. On isole  
 finalement 1,5 g d'oxalate.  
 Point de fusion : 139°C  $[\alpha]_D^{20} = + 70,6^\circ$  (c = 0,5 ; MeOH).

30

Exemple 4. (Composé n°11).

(+)-cis-2S,3S-Acétyleoxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 [[N-[(mé-  
 thyl-1 éthoxy)-2 éthyl]méthylamino]-2 éthyl]-5 dihydro-2,3  
 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, oxalate.

35

4.1 (Bromo-2 éthoxy)-2 propane.

On introduit dans un ballon 7,14 g (0,026 mole) de tribromure  
 de phosphore, on le refroidit à -5°C, on ajoute 2,75 g (0,026  
 mole) de (méthyl-1 éthoxy)-2 éthanol, et on agite le mélange

à température ambiante pendant 15h. On verse le mélange sur une solution aqueuse de bicarbonate de sodium glacée et on l'extrait avec du dichlorométhane. On lave la phase organique avec de l'eau bicarbonatée, on la sèche sur sulfate de magnésium, on l'évapore et on distille le résidu à 40°C sous environ 27 Pa (0,2 mmHg). On obtient 2,29 g de produit qu'on utilise tel quel dans l'étape suivante.

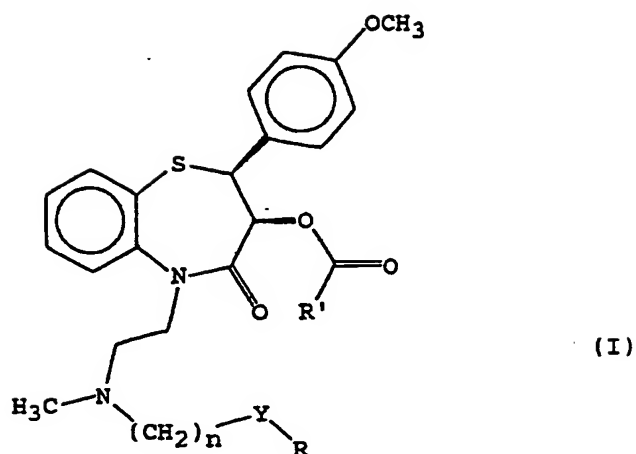
4.2 (+)-cis-2S,3S-Acétyleoxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 [[N-[(méthyl-1 éthoxy)-2 éthyl]méthylamino]-2 éthyl]-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, oxalate.

On chauffe au reflux pendant 30h un mélange de 2,00 g (4,5 mmols) de chlorhydrate de (+)-cis-(2S,3S)-acétyleoxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 (méthylamino-2 éthyl)-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4, 2,29 g (13,7 mmols) de (bromo-2 éthoxy)-2 propane et 2,5 g (18,3 mmols) de carbonate de potassium dans 50 ml de butanone-2. On filtre le mélange, on évapore le filtrat, on reprend le résidu huileux avec du chloroforme et on lave la solution à l'eau. On sépare la phase organique, on la sèche sur sulfate de magnésium et on l'évapore. On purifie le résidu huileux par chromatographie sur gel de silice, et on obtient 1,4 g de base libre. On reprend celle-ci avec de l'alcool isopropylique et on la traite avec de l'acide oxalique. On isole finalement 1,4 g d'oxalate.

Point de fusion : 112°C  $[\alpha]_D^{20} = + 99,4^\circ$  (c = 0,5 ; H<sub>2</sub>O).

Le tableau suivant illustre les structures chimiques et les propriétés physiques de quelques composés selon l'invention.

9  
Tableau



N°	n	Y	R	R'	Sel	P.F	$[\alpha]_D^{20}$ c=0,5
1	2	S	éthyle	CH <sub>3</sub>	ox.	162	+89,9 (MeOH)
2	2	S	isopropyle	CH <sub>3</sub>	ox.	171	
3	2	S	isobutyle	CH <sub>3</sub>	ox.	164	+83,9 (MeOH)
4	2	S	méthyl-2 propène-2 yle	CH <sub>3</sub>	ox.	154	+88,8 (MeOH)
5	2	S	cyclopropylméthyle	CH <sub>3</sub>	ox.	145	+88,4 (MeOH)
6	2	S	cyclohexylméthyle	CH <sub>3</sub>	ox.	171	+80,4 (MeOH)
7	2	S	benzyle	CH <sub>3</sub>	ox.	154	+79,2 (MeOH)
8	2	S	méthoxy-3 benzyle	CH <sub>3</sub>	ox.	128	+76,1 (MeOH)
9	2	S	diméthoxy-3,4 benzyle	CH <sub>3</sub>	ox.	139	+70,6 (MeOH)
10	3	S	isobutyle	CH <sub>3</sub>	mal. ox.	84 110	+77,2 (MeOH) +79,2 (MeOH)
11	2	O	isopropyle	CH <sub>3</sub>	ox.	112	+99,4 (H <sub>2</sub> O)
12	2	O	isobutyle	CH <sub>3</sub>	ox.	83	+93,8 (H <sub>2</sub> O)

Note : dans la colonne "Sel", ox. désigne l'oxalate et mal. désigne le maléate.

Les composés de l'invention ont fait l'objet d'une série d'essais pharmacologiques qui ont mis en évidence leur intérêt comme substances thérapeutiques du système cardiovasculaire.

- 5 Leur activité comme antagonistes du calcium a été montrée grâce à un essai sur l'aorte isolée de lapin. Le protocole expérimental utilisé est une variante de celui utilisé par Godfraind et Kaba (1969), (Blockade or reversal of the
- 10 contraction induced by calcium and adrenaline in depolarized arterial smooth muscle, Br. J. Pharmac., 36, 549-560). Les animaux, des "Fauves de Bourgogne" d'un poids moyen de 1,5 kg, sont sacrifiés par dislocation cervicale et exsanguination. L'aorte thoracique est rapidement prélevée et placée
- 15 dans un milieu de Krebs bicarbonaté oxygéné (95 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>). Des tronçons d'aorte de 1 cm de long environ sont préparés et installés dans des cuves à organes de 20 ml contenant de la solution de Krebs bicarbonatée oxygénée (pH 7,4) à 37°C. Deux
- 20 crochets métalliques en "U" de la longueur des tronçons sont introduits dans la lumière de ceux-ci. L'un des crochets est fixé à la base de la cuve. L'autre, relié à une jauge de contrainte isométrique (Grass FT03), permet l'enregistrement, par l'intermédiaire d'un préamplificateur continu (Grass 7P1)
- 25 des réponses contractiles des tronçons d'aorte sur un oscillographe à encre (Grass 79B). Cette méthode présente, par rapport aux préparations en spirale ou en anneaux, l'avantage de mieux respecter l'intégrité structurale des vaisseaux et de n'enregistrer que la composante radiale des réponses contractiles qui représente le phénomène intéressant du point de
- 30 vue fonctionnel (régulation de la pression artérielle). Une tension initiale de 4 g est imposée aux préparations. De la phénoxybenzamine (1 µM) et du propranolol (1 µM) sont ajoutés aux différents milieux de Krebs afin de supprimer les
- 35 réponses contractiles liées à l'activation des récepteurs α- et β-adrénergiques vasculaires. Après une heure de stabilisation dans le milieu de Krebs bicarbonaté, la tension imposée aux aortes est ramenée à 2 g. Après une période d'attente de 30 minutes, les préparations

sont incubées pendant une dizaine de minutes dans une solution de Krebs bicarbonatée sans calcium en présence d'EDTA (200  $\mu$ M) et de propranolol (1  $\mu$ M). Cette solution est alors remplacée par un milieu de Krebs dépolarisant (riche en potassium et appauvri en sodium) sans calcium et contenant du propranolol (1  $\mu$ M). Après 5 minutes, une concentration unique de 1 mM de calcium est ajoutée à cette solution et une période de stabilisation de 30 minutes est respectée qui permet aux préparations d'atteindre une contraction stable.

5 Ensuite, les composés à tester sont ajoutés au bain, à doses cumulatives, un délai de 30 minutes (temps généralement nécessaire pour l'obtention d'un palier) étant respecté entre deux concentrations, jusqu'à disparition totale de la contraction provoquée par 1 mM de calcium ou bien jusqu'à la concentration maximale de 30  $\mu$ M de produit. En fin d'expérience, une concentration supramaximale de papavérine (300  $\mu$ M) est ajoutée afin de déterminer la décontraction maximale possible de chaque préparation.

10 Les valeurs absolues (en grammes) de la contraction initiale après 1 mM de  $\text{CaCl}_2$  et de la contraction après les différentes concentrations cumulatives de composés vasodilateurs sont obtenues, pour chaque préparation, par différence avec la contraction minimale observée 30 minutes après l'addition finale de 300  $\mu$ M de papavérine. Le pourcentage de diminution de la contraction, par rapport à la contraction provoquée par 1 mM de calcium, est calculé pour chaque concentration de composé et chaque préparation et ce pourcentage individuel de décontraction est moyenné  $\bar{X} \pm \text{S.E.M.}$  Les valeurs moyennes obtenues (pondérées par l'inverse de l'erreur standard à la

15 moyenne), sont analysées à l'aide d'un modèle mathématique de courbe sigmoïde. On calcule la concentration molaire provoquant 50% de décontraction de la réponse au calcium ( $\text{CE}_{50}$ ), ou bien son antilogarithme ( $\text{pCE}_{50}$ ).

20 Pour les composés de l'invention les  $\text{pCE}_{50}$  sont de l'ordre de 5 à 6.

25

30

35

Les composés de l'invention ont aussi fait l'objet d'un essai de liaison (binding) de [ $^3\text{H}$ ]nitrendipine sur le cortex total de rat.

- On utilise des rats mâles Sprague-Dawley de 150 à 200 g. Après dislocation cervicale on excise le cerveau et on dis-  
sèque le cortex cérébral sur une boîte de culture refroidie  
par de la glace. On le place dans 20 volumes d'une solution  
5 tampon à 50 mM de tris(hydroxyméthyl)aminométhane, glacée,  
dont le pH a été ajusté à 7,4 au moyen d'acide chlorhydrique  
(tampon "Tris-HCl"). On homogénéise le tissu à l'aide d'un  
appareil Polytron Ultra-Turrax pendant 30 secondes à la  
moitié de la vitesse maximale, et on lave les préparations  
10 trois fois avec la solution tampon glacée, en les essorant  
chaque fois par centrifugation à 49000xg pendant 10 minutes.  
Finalement on prépare des suspensions à 100 mg de tissu pour  
1 ml de tampon Tris-HCl à 50 mM (pH=7,4 à 37°C).  
On fait ensuite incuber des portions aliquotes de 100 µl de  
15 suspension de membranes lavées avec de la [<sup>3</sup>H]nitrendipine  
(New England Nuclear, d'une activité spécifique de  
70,0 Ci/mmmole) dans un volume final de 1 ml de tampon Tris-  
HCl. Après 30 minutes d'incubation à 37°C on récupère les  
membranes par filtration sur fibres de verre Whatman GF/F, on  
20 les lave trois fois avec 5 ml de tampon Tris-HCl glacé. On  
mesure la quantité de radioactivité liée au tissu et retenue  
sur les filtres par spectrométrie de scintillation. La  
liaison spécifique de la [<sup>3</sup>H]nitrendipine est définie comme  
la diminution de la quantité de radioligand retenue sur le  
25 filtre, due à l'introduction de 1 µM de nifedipine pendant  
l'incubation. La liaison spécifique représente 80 à 90% de la  
quantité totale de la radioactivité recueillie sur le filtre.  
A l'aide de différentes concentrations de composés à étudier,  
on détermine graphiquement la concentration CI<sub>50</sub>, concentra-  
30 tion du composé étudié qui inhibe 50 % de la liaison spéci-  
fique de la [<sup>3</sup>H]nitrendipine.  
Les concentrations CI<sub>50</sub> des composés de l'invention se si-  
tuent entre 0,01 et 1 µM.
- 35 Les composés de l'invention ont fait l'objet d'un essai  
d'inhibition de la liaison spécifique du "PAF", facteur  
d'activation des plaquettes.  
Les animaux sont des lapins d'un poids de 2,5 à 3 kg, anes-  
thésés au pentobarbital sodique (0,25 mg/kg par voie intra-

- veineuse) et maintenus sous respiration artificielle par intubation. On prélève le sang dans l'artère carotide et on le recueille dans des tubes contenant un anticoagulant à base de citrate. On soumet les tubes à une centrifugation à 100g pendant 15 mn, et on dilue le plasma riche en plaquettes avec 2 volumes de tampon à 10 mM de Tris-HCl, pH 7,5, contenant 150 mM de chlorure de sodium et 2 mM d'EDTA (tampon A). Après centrifugation à 1000g pendant 10 mn à 4°C, on lave le culot avec 2 volumes de tampon A, et on effectue une nouvelle centrifugation.
- On met le culot riche en plaquettes en suspension dans un tampon glacé (10 mM de Tris-HCl, pH 7,0, contenant 5 mM de chlorure de magnésium et 2 mM d'EDTA), on l'homogénéise et on le centrifuge à 30000g et à 4°C pendant 10 mn. On répète cette opération, on recueille le culot résultant dans le même tampon, on l'homogénéise et on congèle la suspension de membranes dans l'azote liquide. Pour l'essai d'inhibition de la liaison, on dégèle la suspension et on la dilue avec du tampon pour obtenir une teneur d'environ 150 µg de protéine par millilitre.
- On fait incuber des quantités aliquotes (30 µg de protéine) de membranes en présence de tampon à 10 mM de Tris-HCl, pH 7,0, contenant 10 mM de chlorure de magnésium et 0,25% (en poids par volume) d'albumine de sérum bovin, pendant 2 h à 25°C, avec 1 nM de PAF tritié ([<sup>3</sup>H] 1-O-hexadécyl-2-acétylsn-glycéryl-3-phosphorylcholine), dans un volume final de 1 ml. On termine l'incubation en recueillant les membranes et en les lavant rapidement avec du tampon glacé sur des filtres Whatman, en utilisant un collecteur de cellules Skatron connecté à une pompe à vide. On sèche les filtres et on les dose par spectrométrie scintigraphique. On définit la liaison spécifique par la différence de radioactivité des membranes observée en l'absence et en la présence de 1 µM de PAF tritié.
- Les essais d'inhibition de la liaison sont effectués dans les conditions décrites, en présence de différentes concentrations de composés à tester. On détermine ensuite la concentration CI<sub>50</sub> pour chaque composé (concentration qui inhibe de 50% la liaison spécifique) en traçant la courbe d'inhibition

selon la méthode des moindres carrés.

Les  $CI_{50}$  des composés de l'invention, dans cet essai, se situent entre 2 et 6  $\mu M$ .

- 5 Les composés de l'invention ont fait l'objet d'un essai d'inhibition de l'agrégation des plaquettes du sang induite par le "PAF-acéther" (1-O-( $C_{16}$ - $C_{18}$ -alkyl)-2-acétyl-sn-glycéryl-3-phosphorylcholine).

- L'essai est effectué selon la méthode de Born (J. Physiol.,  
10 (1963), 168, 178-195) sur des plaquettes de lapin. On prélève le sang par ponction cardiaque, et on le recueille sur du citrate trisodique à 3,8% dans les proportions de 1 volume de solution anti-coagulante pour 9 volumes de sang. On effectue  
15 ensuite une centrifugation à 250g pendant 10 mn, on prélève le plasma riche en plaquettes et on procède à la numération des plaquettes.

- On soumet le culot à une nouvelle centrifugation, à 3600g pendant 15 mn, de façon à obtenir du plasma pauvre en plaquettes, et on dilue le plasma riche en plaquettes au moyen  
20 de plasma pauvre en plaquettes, pour obtenir une suspension contenant de 200000 à 300000 plaquettes par microlitre. On provoque l'agrégation in vitro au moyen de PAF-acéther à la concentration maximale nécessaire pour obtenir une réponse réversible maximale (normalement entre 1,5 et 3,3 ng/ml). On  
25 enregistre les variations de densité optique au moyen d'un agrégomètre (300  $\mu l$  de plasma riche en plaquettes par cuve, 1100 t/mn à 37°C) jusqu'au dépassement de l'agrégation maximale.

- Pour les essais, on dissout les composés de l'invention dans  
30 du diméthylsulfoxyde et on les fait incuber pendant 2 mn à 37°C avant l'addition du PAF-acéther.

L'action anti-agrégante des composés s'exprime par la concentration  $CI_{50}$ , concentration qui inhibe de 50% l'agrégation provoquée par le PAF-acéther.

- 35 Les  $CI_{50}$  des composés de l'invention, dans cet essai, se situent entre 4 et 8  $\mu M$ .

Les résultats des essais pharmacologiques montrent que les composés de l'invention sont des antagonistes du calcium et

peuvent, à ce titre, être utilisés pour le traitement de diverses affections pour lesquelles ce type d'agents est indiqué.

C'est ainsi qu'en particulier ils peuvent être utilisés en  
5 médecine cardiovasculaire pour le traitement d'affections nécessitant des modulateurs des mouvements transmembranaires et intracellulaires du calcium, tout spécialement l'hypertension, l'angor et l'arythmie cardiaque.

Ils présentent en outre des effets antiathérogènes, antiagrégants plaquettaires, anti-ischémiques cardiaques, anti-  
10 ischémiques cérébraux, antimigraineux, antiépileptiques, antiasthmatiques et antiulcéreux.

Dans le domaine cardiovasculaire ils peuvent être utilisés seuls ou associés à d'autres substances actives connues  
15 telles que les diurétiques, les  $\beta$ -bloquants, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, les antagonistes des récepteurs  $\alpha_1$ .

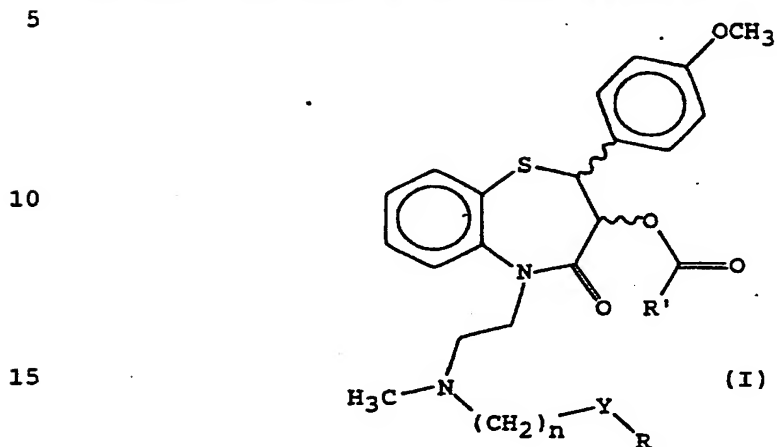
Combinés avec des agents destinés à potentialiser leurs effets ou à diminuer leur toxicité, ils peuvent être égale-  
20 ment indiqués pour le traitement du cancer ou dans les transplantations.

Les composés de l'invention peuvent être présentés sous toutes formes appropriées à l'administration orale ou paren-  
25 térale, en association avec des excipients connus, par exemple sous forme de comprimés, gélules, dragées, capsules, solutions ou suspensions buvables ou injectables.

La posologie journalière peut aller par exemple de 30 à 300 mg par la voie orale et de 25 à 100 mg par voie paren-  
30 térale.

## Revendications

1. Composés, sous forme d'isomères optiques purs ou de leurs mélanges, répondant à la formule générale (I)



dans laquelle

n représente le nombre 2 ou 3,

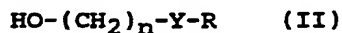
20 Y représente un atome de soufre ou d'oxygène,

R représente un groupe (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyle linéaire ou ramifié, un groupe (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>)alcényle linéaire ou ramifié, un groupe cyclo-(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)alkylméthyle, ou un groupe benzyle éventuellement substitué par un ou deux groupes méthoxy, et

25 R' représente un groupe (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyle linéaire ou ramifié, ainsi que leurs sels d'addition à des acides acceptables en pharmacologie.

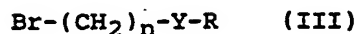
2. Procédé de préparation des composés selon la revendication

30 1, caractérisé en ce qu'on fait réagir d'abord un alcool de formule générale (II)

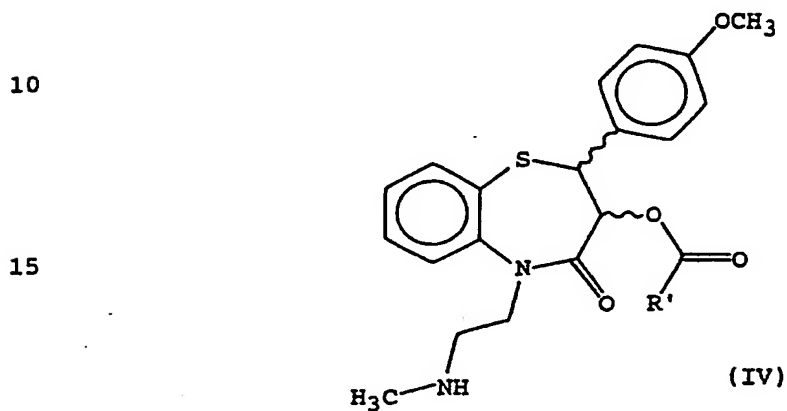


35 (dans laquelle n et R sont tels que définis dans la revendication 1) avec un agent de bromation tel que le tribromure de phosphore ou le tétrabromure de carbone en présence de triphénylphosphine, à température ambiante, dans un solvant aprotique, de préférence le dichlorométhane ou l'acétonitrile,

puis on fait réagir le dérivé bromé de formule générale (III) ainsi obtenu



- 5 avec une acyloxy-3 (méthoxy-4 phényl)-2 (méthylamino-2 éthyl)-5 dihydro-2,3 5H-benzothiazépine-1,5 one-4 de formule générale (IV)



20

(dans laquelle R' est tel que défini dans la revendication 1) dans un solvant aprotique, de préférence l'acétone ou la butanone-2, en présence d'une base, à la température du reflux.

25

3. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient un composé selon la revendication 1, associé à un excipient pharmaceutique.